

ТОКМАКОВА Ольга Геннадьевна

**ИЗМЕНЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ДЕТЕЙ
ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ КОРРЕКЦИИ**

14.00.36 Аллергология и иммунология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в лаборатории экологической иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

Научный руководитель:

кандидат медицинских наук, доцент **Бахметьев Б.А.**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Юшков В.В.**

кандидат медицинских наук **Лопатина В.А.**

Ведущая организация:

Челябинская государственная медицинская академия МЗ РФ

Защита диссертации состоится «5» декабря 2003 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 004. 019.01 в Институте экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН по адресу: 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13.
Факс: (3422) 446711.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.

Автореферат разослан «5» ноября 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор



Ившина И.Б.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время интенсивно развивается новое направление клинической иммунологии - экологическая иммунология (Адо, 1990; Петров, Караулов, 1990; Барамотов, Караулов, 2000). С одной стороны, его развитие тесно связано с прогрессирующим ухудшением состояния окружающей среды во многих регионах мира, в том числе и России (Демаков, 1999; Schenker, 1993; Brunekreef, Holgate, 2002). С другой стороны, определяется доказанностью влияния на организм человека некоторых загрязняющих веществ антропогенного происхождения и ростом иммунопатологии среди населения промышленных регионов. Последнее считается не только результатом воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды (Хаитов и др., 1995; Караулов, 1999), но и следствием нарушения адаптационных процессов (Новиков, Смирнов, 1995; Черешнев и др., 2001).

Особое место по «чувствительности» к экологическому воздействию отводится детям, поскольку в процессе постнатального онтогенеза детский организм вынужден сочетать свой рост и развитие с необходимостью постоянной адаптации к воздействию сложного комплекса физических, химических, биологических и других факторов окружающей среды (Вельтишев, 1995; Richter-Reichhelm *et al.*, 2002). Не является исключением и иммунная система ребенка, так как ее формирование в онтогенезе, как и других гомеостатических систем организма состоит из нескольких этапов (Вельтишев, 1989; Стефани, Вельтишев, 1996; Pabst, 1980; Holt, 1995), продолжается после рождения и многими авторами рассматривается в качестве основной мишени токсического воздействия загрязняющих веществ (Holladay, Smialowicz, 2000; Richter-Reichhelm *et al.*, 2002). В немногочисленных работах, посвященных однократному тестированию состояния иммунной системы детей, проживающих в условиях воздействия химического, радиационного или биологического загрязнения, выявлены определенные отличия от нормальных показателей (Козлюк и др., 1989; Бахметьев и др., 1993; Зайцева и др., 1997; Румянцева, Дмитриев, 1999; Михайлова,

2001), зафиксирована более высокая частота аллергических и/или иммунодефицитных состояний (Волосников, 1998; Antico, 2000; Salvi, 2001; D'Amato, 2002). Однако в литературе по экологической иммунологии детского возраста отсутствуют сведения о многократном сравнительном анализе состояния иммунной системы у одних и тех же детей. Фрагментарны данные и о возможности фармакологической коррекции и/или предотвращения развития экологически-индуцированной иммунопатологии среди детского населения.

Цель настоящего исследования - изучение состояния иммунной системы детей в условиях пролонгированного воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды и поиск возможных путей устранения и предупреждения развития выявляемых нарушений.

Основные задачи исследования:

1. Исследовать лейкоцитарный состав и фагоцитарную активность клеток венозной крови клинически здоровых детей из различных по степени антропогенного загрязнения территорий (на примере Мотовилихинского района г. Перми).
2. Выявить фенотипические и функциональные различия Т- и В- системы иммунитета у обследованных детей.
3. С учетом индивидуального обследования иммунного статуса, разработать и апробировать схемы профилактики иммунопатологических состояний у детей. На основании повторного обследования оценить эффективность их применения для лечения детей из различных по степени антропогенного загрязнения территорий.

Научная новизна. На основе сравнительного анализа состояния иммунной системы клинически здоровых детей, рандомизированных по половому признаку, возрастному составу и различающихся по уровню экспозиции к факторам антропогенного загрязнения, подтверждена чувствительность отдельных элементов иммунной системы к экологическому неблагополучию. Впервые установлено, что кровь обследованных детей из района с высокой степенью ан-

тропогенного загрязнения характеризуется достоверным изменением цитокинового спектра сыворотки крови, экспрессии клеточных маркеров активации и иммунологической памяти. Получены оригинальные данные, демонстрирующие зависимость отдельных популяций фагоцитов к экологическому «прессингу». По данным динамического наблюдения и сопоставления параметров иммунного статуса детей до и после их лечения обоснована перспективность коррекции выявляемых нарушений при хроническом неблагоприятном экологическом воздействии.

Теоретическое и практическое значение работы. Полученные данные расширяют представление о патогенезе вторичных иммунодефицитных состояний, развивающихся у детей в условиях антропогенного загрязнения. Результаты проведенных исследований подтверждают возможность Th-2 поляризации иммунных реакций под влиянием неблагоприятных факторов внешней среды, сопровождающейся не только снижением противомикробного иммунитета, но и аллергизацией ребенка. Разработаны и апробированы различные схемы фармакологической профилактики развития иммунодефицитных состояний, ориентированные на детей, посещающих детские сады и школы экологически неблагоприятных территорий. Материалы диссертационной работы использованы при подготовке «Основных показателей иммунограммы детей и взрослых Пермской области», используемых в практическом здравоохранении Уральского региона.

Результаты исследования применяются в учебном процессе кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии и клинической иммунологии Пермской государственной фармацевтической академии, кафедры микробиологии и иммунологии Пермского государственного университета, кафедры пропедевтики детских болезней, факультетской педиатрии и последипломного образования, кафедры детских болезней и последипломного образования N. 2 Пермской государственной медицинской академии,

Основные положения, выносимые на защиту

1. Иммунный статус детей, проживающих и посещающих детские сады и школы экологически неблагоприятной территории промышленного города, характеризуется снижением фагоцитарной активности моноцитов и эозинофилов, «раздражением» Т- и В-системы иммунитета с признаками Th2-поляризации иммунных реакций. Данные изменения протекают на фоне активации миело- и лимфопоэза и сопровождаются увеличением численности естественных киллеров с одновременным снижением количества клеток памяти.

2. Превентивная иммунокоррекция, проведенная на основе индивидуально-го обследования иммунной системы ребенка, устраняет выявляемые иммунологические нарушения. При этом на фоне нормализации параметров иммунограммы повышается резистентность обследованных детей к вирусным инфекциям.

Апробация работы и публикации. Основные положения работы доложены и обсуждены на V Международном форуме по иммунотерапии и генотерапии, Иерусалим, Израиль, 1996; Конференции молодых ученых «Современные проблемы экологии, микробиологии и иммунологии», Пермь, 1999; V и VI Научных конференциях с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге», Санкт-Петербург, 2001, 2002; II Российской конференции молодых ученых России с международным участием «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины», Москва, 2001; IV Конгрессе РААКИ «Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии», Москва, 2001; Международной конференции «Проблемы загрязнения окружающей среды», Волгоград-Пермь, 2001; XVIII Съезде физиологического общества имени И. П. Павлова, Казань, 2001, II Конференции иммунологов Урала, Пермь, 2002.

По теме диссертации опубликовано 11 работ.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 180 страницах машинописного текста, содержит 26 таблиц и 30 рисунков. Диссертация состо-

ит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных наблюдений, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающей 270 литературных источников, из них 98 отечественных и 162 зарубежных авторов.

Связь работы с научными программами. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН и является частью исследований, проводимых по теме «Регуляторные механизмы функционирования иммунной системы при антропогенных воздействиях» (индексы приоритетных направлений 4.1.2, 4.2.5 и 4.3.5; номер государственной регистрации 01.9.70 009928). Исследования поддержаны грантом РФФИ N. 01-04-96463.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика обследованных и методы исследования. На основании расчетных данных, любезно предоставленных Главным управлением природных ресурсов по Пермской области (начальник отдела экспертизы и согласования - Гилева Т.Е) и результатов реальных измерений среднегодовых концентраций загрязняющих веществ на стационарных постах Гидрометеоцентра были выбраны две территории Мотовилихинского района, отличающиеся по уровню антропогенного загрязнения. Состояние здоровья детей, посещающих детские дошкольные учреждения и школы этих территорий, оценивали в соответствии с «Инструкцией по проведению профилактических осмотров детей дошкольного и школьного возраста на основе медико-экономических нормативов» (Приказ N. 60 - МЗ от 14.03.1995), используя амбулаторные карты (форма 112) и данные анамнеза. Для дополнительной клинической характеристики противoinфекционного иммунитета учитывали частоту случаев заболевания острой респираторно-вирусной инфекцией (ОРВИ) в течение года до обследования (табл.1).

Таблица 1

Распределение обследованных учреждений и детей в зависимости от уровня антропогенного загрязнения территорий Мотовилихинского района г. Перми

	Экологическая ситуация	
	Благоприятная	Неблагоприятная
Номер детского дошкольного учреждения	333, 419, 79, 317, 353, 383, 67, 57, 355	272, 161, 219, 221, 227, 58, 63
Номер школы	112, 127, 133	49
Общее число обследованных детей	64	56
мальчики	32	23
девочки	32	33
Возраст детей	От 2,69 до 15,99 лет	От 2,11 до 15,28 лет
Группа здоровья (M±m)	2,13±0,08	2,18±0,08
Частота случаев ОРВИ (M±m)	1,58±0,21	1,52±0,24

Методы исследования. Из венозной крови детей, взятой с согласия родителей, получали сыворотку крови. В другую порцию цельной крови добавляли гепарин (20-30 ЕД/мл) и определяли лейкоцитарный состав с расчетом относительного (%) и абсолютного (в 1 мкл) числа форменных элементов. Часть цельной крови, содержащей антикоагулянт, использовали для анализа фагоцитарной активности. Остальной объем образца фракционировали на градиенте фиколл-верографина ($d = 1,077 \text{ г/см}^3$) и полученные мононуклеарные клетки подвергали тестированию. Оценку фагоцитарной активности лейкоцитов проводили, используя в качестве объектов фагоцитоза формализованные эритроциты барана (Каплин и др., 1992). Отдельно рассчитывали процент фагоцитоза, фагоцитарное число (ФЧ), фагоцитарный индекс (ФИ) и эффективность фа-

гоцитоза (Эф.) для нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов. Экспрессию CD-молекул на фракционированных мононуклеарах определяли в варианте реакции прямой иммунофлуоресценции с помощью ФИТЦ-меченных первичных моноклональных антител и учетом результатов на флуоресцентном микроскопе (Джаносси, Амлот, 1990). Применяли следующие моноклональные антитела ("DAKO", Дания) мыши против человека: анти-CD2 (F0767), анти-CD22 (F7060), анти-CD3 (F0818), анти-CD4 (F0766), анти-CD8 (F0765), анти-CD45RO (F0800), анти-HLA -DP,DQ,DR (F0817), анти- CD16 (F7011). Параллельно, используя модификацию (Шилова, 1995) стандартных методов розеткообразования с гетерологичными эритроцитами (Чередев, 1976; Кожевников, 1983; Ярилин, 1985; Лозовой и др., 1986; Хаитов и др., 1995), определяли Е-РОК, М-РОК, ранние Е-РОК, термостабильные Е-РОК и нагрузочные пробы с тактивинном (5 и 0,5 мкг/мл) и теофиллином. Содержание сывороточных иммуноглобулинов (IgG, IgA и IgM) определяли методом простой радиальной диффузии в геле агарозы (Mancini et al. 1965). Концентрации IgE, интерлейкина-1 альфа (IL-1 α), интерлейкина-1 бета (IL-1 β), рецепторного антогониста интерлейкина-1 (RAIL-1), интерлейкина-8 (IL-8), интерферона гамма (IFN- γ) в сыворотке крови регистрировали с помощью иммуноферментного анализа, используя коммерческие тест-системы отечественного («Цитокин», «Протеиновый контур», «Вектор-Бест») и импортного («Biomar») производства.

Статистический анализ результатов проводили с помощью стандартных пакетов прикладных программ: Microsoft Excel (Microsoft Corporation, USA) и Statistica 6 (StatSoft. Inc., USA). Расчет достоверности различий между двумя группами проводили по непарному (для независимых выборок) и парному (для зависимых выборок) t-критерию Стьюдента при нормальном распределении. Если распределение не учитывалось или не соответствовало нормальному, то достоверность различий вычисляли по U-критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунная система детей в экологически благоприятном и неблагоприятном районах. В табл. 2 представлены результаты сравнительного анализа лейкоцитарного состава венозной крови детей. Установлено, что в крови

Таблица 2

**Изменение лейкоцитарного состава венозной крови детей
при антропогенном загрязнении**

Показатели		Экологическая ситуация		P<0,05
		Благоприятная n=64	Неблагоприятная n=56	
Лейкоциты	(абс.)*	6133±242	7025±347	TU
Нейтрофилы:				
палочкоядерные	(%)	3,5±0,3	4,3±0,3	
	(абс.)	211±20	304±39	T
сегментоядерные	(%)	43,3±1,2	41,4±1,4	
	(абс.)	2672±135	2976±205	
Эозинофилы	(%)	3,9±0,5	4,1±0,5	
	(абс.)	235±27	286±38	
Моноциты	(%)	1,4±0,2	0,9±0,2	TU
	(абс.)	93±15	59±12	U
Лимфоциты	(%)	47,8±1,2	49,5±1,4	
	(абс.)	2919±136	3398±165	TU

Примечание. *- абсолютное число клеток в 1 мкл крови; T- различия достоверны по непарному t-критерию Стьюдента; U- различия достоверны по U-критерию Манна-Уитни.

детей экологически неблагоприятной территории увеличено абсолютное число лейкоцитов. Его рост связан, прежде всего, с большей концентрацией лимфоцитов в крови детей экологически неблагоприятной территории, по сравнению с их сверстниками, проживающими в более благоприятных условиях. Одновре-

менно в неблагоприятных условиях окружающей среды изменялось соотношение между палочкоядерными и сегментоядерными нейтрофилами, снижалось абсолютное и относительное число моноцитов.

Таблица 3

Фагоцитарная активность лейкоцитов детей в зависимости от степени антропогенного загрязнения

Показатели		Экологическая ситуация		P<0,05
		Благоприятная n=64	Неблагоприятная N=56	
Нейтрофильный фагоцитоз	(%)	41,2±1,9	39,0±2,2	
	ФИ	1,67±0,04	1,67±0,05	
	ФЧ	0,7±0,04	0,7±0,05	
	Эф.	2009±159	2473±344	
Эозинофильный фагоцитоз	(%)	36,1±1,7	34,1±1,8	TU
	ФИ	1,79±0,08	1,54±0,07	
	ФЧ	0,66±0,05	0,54±0,04	
	Эф.	146±20	140±19	
Моноцитарный фагоцитоз	(%)	56,6±1,9	53,5±2,5	TU
	ФИ	1,85±0,06	1,73±0,06	
	ФЧ	1,09±0,06	0,97±0,07	
	Эф.	104±21	53±11	

Примечание. ФИ - фагоцитарный индекс; ФЧ - фагоцитарное число; Эф.- эффективность фагоцитоза - абсолютное число поглощенных объектов фагоцитоза в расчете на 1 мкл крови; T- различия достоверны по непарному t-критерию Стьюдента; U- различия достоверны по U-критерию Манна-Уитни.

Несмотря на увеличение в условиях антропогенного загрязнения числа клеток потенциально способных к фагоцитозу, при дифференцированной оценке их поглотительной способности, выявлено статистически значимое снижение активности моноцитарного и эозинофильного фагоцитоза у детей из экологиче-

ски неблагоприятной территории (табл.3). Состояние системы адаптивного иммунитета у детей из экологически неблагоприятной территории также существенно отличалась от такового у их сверстников из экологически благоприятной территории. Результаты фенотипирования лимфоцитов и постановки реакций основанных на феномене розеткообразования свидетельствуют о модификации как Т-, так и В-звена иммунитета в условиях антропогенного загрязнения территорий.

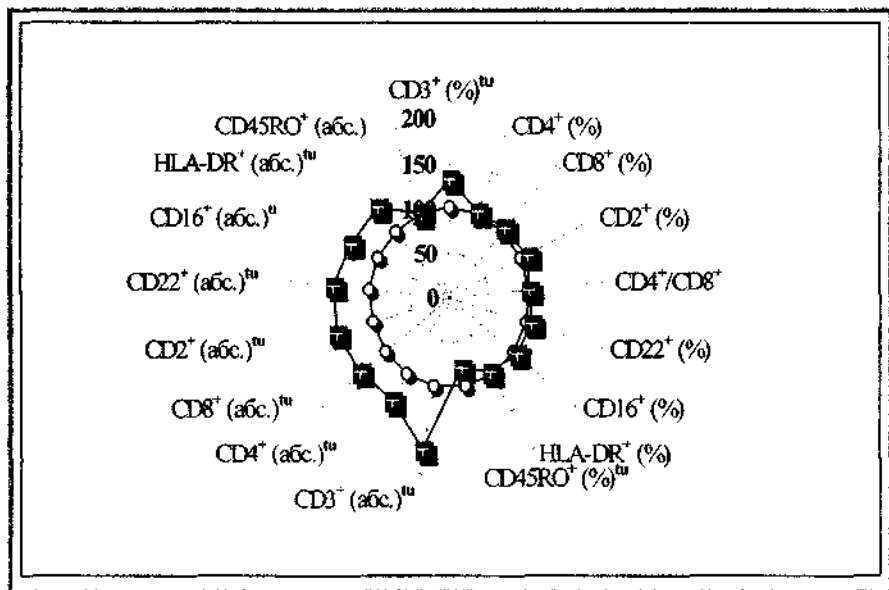


Рис. 1. Сравнительная характеристика экспрессии CD-молекул на лимфоцитах обследованных детей из разных по степени антропогенного загрязнения территорий.

○ - экологически благоприятная ситуация (показатели приняты за 100%);
 ■ - экологически неблагоприятная ситуация ; t- различия достоверны по непарному t-критерию Стьюдента; u- различия достоверны по U-критерию Манна-Уитни.

В крови детей из экологически неблагоприятной территории выявлено достоверное увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов ($CD3^+$, $CD2^+$), Т-

хелперов ($CD4^+$) и цитотоксических клеток ($CD8^+$), сопровождающиеся ростом численности HLA-DR-позитивных лимфоцитов и снижением относительного количества $CD45R0^+$ -клеток (рис. 1). При этом в функциональных и нагрузочных тестах основанных на феномене розеткообразования с эритроцитами барана, установлено увеличение абсолютного числа Е-РОК, снижение «запроса» на гормоны тимуса (уменьшение разницы между Е-РОК с тактивинном и контрольными Е-РОК) и увеличение абсолютного количества термостабильных Е-РОК. В тоже время у детей из разных по уровню антропогенного загрязнения территорий не обнаружено различий по результатам нагрузочной пробы с теофиллином.

В совокупности полученные данные свидетельствуют об определенной активации Т-системы иммунитета под влиянием неблагоприятных факторов окружающей среды. О возможности такой активации свидетельствуют данные и других авторов (Зайцева и др., 1997), которые в крови детей экологически неблагоприятных территорий Пермской области, зарегистрировали повышение (в процентах от нормы) некоторых параметров Е-роzetkoобразования. Наряду с признаками активации Т-системы, в крови детей из экологически неблагоприятной территории выявлено повышение числа клеток, экспрессирующих $CD22$ (рис. 1), и отсутствие статистически значимых различий по числу М-РОК ($p>0,05$) в сравнении с аналогичными параметрами детей из экологически благоприятной территории. Несмотря на это, достоверных различий по содержанию иммуноглобулинов (IgG, IgM и IgA) у детей разных территорий не обнаружено (рис. 2). Однако у детей из экологически неблагоприятной территории выявлено существенное ($p<0,05$) увеличение концентрации общего IgE, которое параллельно с уменьшением содержания $IFN-\gamma$ в сыворотке крови этих детей, логично рассматривать как свидетельство преобладания в организме Т хелперов 2 типа.

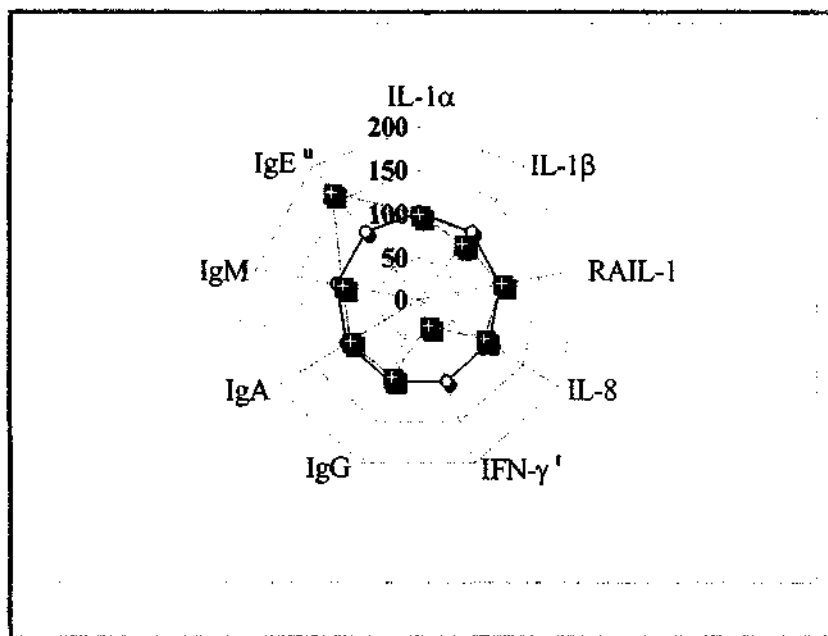


Рис.2. Сравнительная характеристика содержания цитокинов и иммуноглобулинов в сыворотке крови обследованных детей из разных по степени антропогенного загрязнения территорий.

○ - экологически благоприятная ситуация (показатели приняты за 100%);

■ - экологически неблагоприятная ситуация ; t- различия достоверны по непарному t-критерию Стьюдента; и- различия достоверны по U-критерию Манна-Уитни.

Таким образом, результаты сравнительного анализа состояния иммунной системы детей позволяют предполагать «задержку старта» ТЫ- поляризации иммунных реакций под влиянием неблагоприятных факторов окружающей среды.

Эффективность превентивной иммунокоррекции у детей экологически благоприятной и неблагоприятной территорий. Выбор схемы терапевтического воздействия был обусловлен результатом индивидуальных иммунограмм. Данный подход, разработанный в Институте экологии и генетики мик-

роорганизмов УрО РАН (Кеворков, Бахметьев, 1998) и получивший название «посиндромной иммунокоррекции» хорошо зарекомендовал себя при лечении взрослых (Черешнев и др., 2001). Первый вариант (базовый) состоял из комплекса препаратов, включавшего олиговит, настойку родиолы розовой, дибазол и пивные дрожжи. Второй вариант включал в себя прием декариса с последующим переходом на базовую терапию. Третий вариант отличался от базовой терапии включением в курс лечения парентерального введения тимогена. Четвертый вариант иммунокоррекции состоял из базового курса, после окончания которого, дети принимали ликопид. Все препараты назначали детям в возрастных дозировках. Последовательность приема препаратов и контроль возможности развития побочных реакций осуществлялся медперсоналом детских садов или школ. Через месяц после окончания терапии проводили повторное тестирование состояния иммунной системы.

Как следует из данных (табл.4) при применении базового варианта коррекции содержание лейкоцитов и лимфоцитов в единице объема крови по сравнению с их значениями до лечения не изменялось. В то же время выявлено повышение поглотительной активности клеток, которое более выражено у детей экологически неблагоприятной территории. Вне зависимости от степени антропогенного загрязнения в крови детей снижалось абсолютное число М-РОК (преимущественно В1 лимфоциты) и относительное количество термостабильных Е-РОК. У детей из экологически благоприятной территории на фоне лечения зафиксировано увеличение абсолютного числа $CD16^{+}$ -клеток (преимущественно естественные киллеры) и уменьшение $CD4^{+}$ -лимфоцитов. Направленность и выраженность изменений иммунного статуса при сравнении анализируемых показателей между детьми разных территорий после лечения позволяет утверждать, что дети из экологически неблагоприятной территории интенсивнее реагировали на данную схему иммунокоррекции.

Таблица 4

**Иммунная система детей, получавших базовый вариант
иммунокоррекции**

Показатели	Б	Н	Показатели	Б	Н
Лейкоциты	↔	↔	CD3 ⁺	>	>
Лимфоциты	↔	↔	CD2 ⁺	>	>
Фагоцитарная актив- ность нейтрофилов	>	↑	*Е-РОК	<	↔
Фагоцитарная актив- ность моноцитов	>	↑	CD4 ⁺	↓	<
Фагоцитарная актив- ность эозинофилов	↑	>	*CD8 ⁺	<	↔
CD22 ⁺	↔	↔	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	↔	<
М-РОК	↓	↓	CD16 ⁺	↑	>
IgG	↔	>	CD45R0 ⁺	<	>
IgM	↓	<	*HLA-DR ⁺	↔	>
IgA	↓	↔	Ранние Е-РОК	<	↓
IFN-γ	↔	↔	*Термостабильные Е-РОК	↓	↓
IL-1α	>	>	Теоф. резистентные Е-РОК	<	↔
IL-1β	>	↔	Теоф. чувствительные Е-РОК	<	↓
RAIL-1	↔	↔	Е-РОК с тактивиним (5 мкг/мл)	↔	↔
IL-8	↓	↔	Е-РОК с тактивиним (0,5 мкг/мл)	↔	↔

Примечание. Б - экологически благоприятная территория; Н - экологически неблагоприятная территория; ↑, ↓ - достоверное (по парному t - критерию Стьюдента) или недостоверное, но значительное - >, < - повышение и понижение показателя по отношению к его значению у этих же детей до лечения; ↔ - отсутствие различий в динамике лечения; * - достоверное различие (по U-критерию Манна-Уитни) между показателями у детей разных территорий.

Добавление в схему лечения декариса также не сопровождалось достоверными изменениями в численности лейкоцитов и лимфоцитов при парном сравнении (табл. 4). Фагоцитарная активность лейкоцитов на фоне этой схемы иммунокоррекции менялась менее выражено, чем при базовом варианте. Ее рост был достоверным только для нейтрофильного фагоцитоза и также был более выражен у детей из экологически неблагоприятной территории. В крови детей этой группы выявлено достоверное увеличение абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3⁺) и концентрации IgG, а также снижение абсолютного числа Т-хелперов (CD4⁺) и относительного количества тактивинчувствительных Е-

РОК. Обнаружено, что эффекты этой схемы иммунокоррекции на интегральные параметры В-системы аналогичны предшествующему варианту и сопровождаются незначительным, хотя и статистически значимым снижением концентрации сывороточных IgA и IgM.

Таблица 5

Иммунная система детей, получавших декарис в сочетании с базовым вариантом иммунокоррекции

Показатели	Б	Н	Показатели	Б	Н
Лейкоциты	>	↔	*CD3 ⁺	>	↑
*Лимфоциты	>	<	CD2 ⁺	↔	↔
Фагоцитарная активность нейтрофилов	↔	↑	Е-РОК	↔	↓
Фагоцитарная активность моноцитов	<	>	CD4 ⁺	<	↓
Фагоцитарная активность эозинофилов	↔	>	CD8 ⁺	<	<
CD22*	↔	↔	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	↔	↔
М-РОК	↓	↓	*CD16 ⁺	↔	↔
IgG	↔	↑	CD45R0 ⁺	<	<
*IgM	↓	↔	HLA-DR ⁺	<	<
*IgA	↓	>	Ранние Е-РОК	↓	↔
IFN-γ	<	↔	*Термостабильные Е-РОК	↓	<
IL-1α	↑	↔	Теофеллинрезистентные Е-РОК	↔	<
*IL-1β	<	>	Теофеллинчувствительные Е-РОК	>	<
RAIL-1	↔	↔	Е-РОК с активином (5 мкг/мл)	↔	↓
IL-8	↔	↔	Е-РОК с активином (0,5 мкг/мл)	↔	<

Применение. Б - экологически благоприятная территория; Н - экологически неблагоприятная территория; ↑, ↓ - достоверное (по парному t - критерию Стьюдента) или недостоверное, но значительное - >, < - повышение и понижение показателя по отношению к его значению у тех же детей до лечения; ↔ - отсутствие различий в динамике лечения; * - достоверное различие (по U-критерию Манна-Уитни) между показателями у детей разных территорий.

Другая схема терапии, с дополнительным назначением тимогена использовалась редко (5 детей) и преимущественно у детей из экологически неблагоприятной территории (4 ребенка), с выраженным «запросом» на гормоны тимуса. Несмотря на это, после лечения детей из этой территории выявлено статистически значимое увеличение концентрации IL-1 α в сыворотке крови.

Таблица 6

Иммунная система детей после приема ликопида в сочетании с базовым вариантом иммунокоррекции

Показатели	Б	Н	Показатели	Б	Н
Лейкоциты	↔	>	*CD3+	↑	↑
Лимфоциты	>	>	CD2 ⁺	↑	
Фагоцитарная активность нейтрофилов	>	>	E-POK	>	>
Фагоцитарная активность моноцитов	>	↑	CD4 ⁺	>	↔
Фагоцитарная активность эозинофилов	>	>	CD8 ⁺	>	<
CO22 ⁺ -клетки	>	↔	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	↔	>
M-POK	↓	↓	CD16 ⁺	>	>
IgG	>	>	CD45R0 ⁺	>	>
IgM	<	<	HLA-DR ⁺	↔	>
IgA	<	↔	* Ранние E-POK	<	↓
IFN- γ	↑	↑	Термостабильные E-POK	↔	↔
IL-1 α	>	>	Теофеллинрезистентные E-POK	>	↑
IL-1 β	↔	>	Теофеллинчувствительные E-POK	<	<
RAIL-1	>	>	E-POK с тактивинном (5 мкг/мл)	↔	↔
IL-8	<	<	E-POK с тактивинном (0,5 мкг/мл)	<	>

Применение. Б - экологически благоприятная территория; Н - экологически неблагоприятная территория; ↑, ↓ - достоверное (по парному t - критерию Стьюдента) или недостоверное, но значительное - >, < - повышение и понижение показателя по отношению к его значению у этих же детей до лечения; ↔ - отсутствие различий в динамике лечения; *, • - достоверное различие (по U-критерию Манна-Уитни) между показателями у детей разных территорий.

При этом установлено достоверное снижение абсолютного числа М-РОК, уменьшение концентрации сывороточного IgM без существенных сдвигов со стороны Т-системы иммунитета, что дает основание считать данную схему иммунокоррекции мало эффективной для предотвращения экологически индуцированной иммунопатологии. Исходя из результатов повторного иммунологического обследования, комбинацию базового варианта лечения и ликопида можно считать наиболее эффективной (табл. 6). У детей после применения этой схемы иммунокоррекции, вне зависимости от степени антропогенного загрязнения выявлено увеличение концентрации IFN- γ в сыворотке крови. Одновременно установлено увеличение фагоцитарной активности моноцитов и рост численности Т-лимфоцитов. В отличие от других использованных схем на фоне данного варианта превентивной иммунокоррекции фактически исчезали значимые различия в субпопуляционном составе Т- и В-лимфоцитов между детьми разных территорий после их лечения. Обнаружено лишь более высокое абсолютное число CD3⁺-клеток и относительное количество ранних Е-РОК в крови детей из неблагоприятной территории."

На рис. 3 представлены данные сравнительного учета заболеваемости ОРВИ среди обследованных детей до и после превентивной иммунокоррекции. Установлено, что в общей группе (без деления на варианты терапии) заболеваемость у детей из экологически благоприятной территории снизилась на 35% ($p<0.05$), а в неблагоприятной на 38% ($p<0.05$). Несмотря на снижение в катанезе частоты случаев ОРВИ при каждом варианте лечения, статистически значимое уменьшение зарегистрировано только после использовании базовой схемы с добавлением к терапии ликопида. Среди детей из благоприятной территории этот показатель снизился на 52 % ($p<0.05$), а у детей из неблагоприятной территории на 60% ($p<0.05$). Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения превентивной иммунокоррекции у детей экологически загрязненных территорий с целью предотвращения развития иммунопатологических процессов.

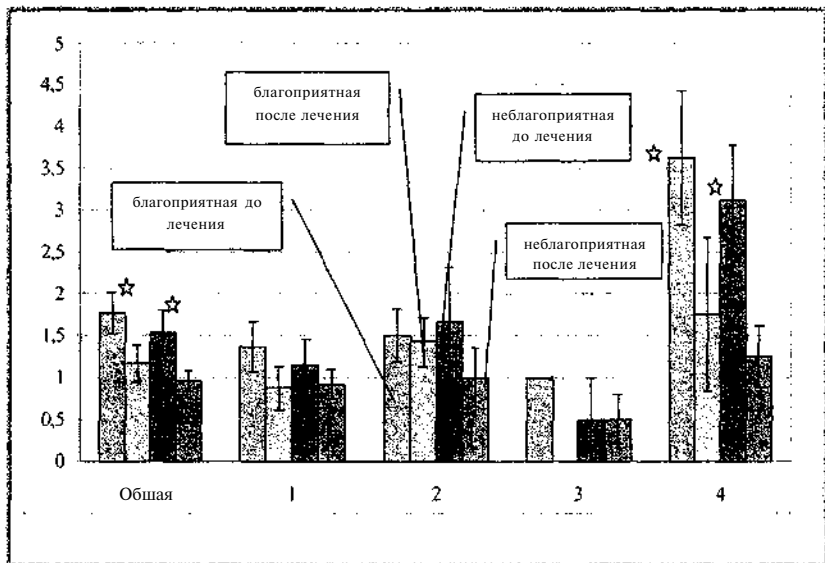


Рис. 3. Изменение заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями у детей разных территорий на фоне превентивной иммунокоррекции.

По оси ординат - частота случаев ОРВИ в год; по оси абсцисс - схемы терапии: 1- базовый вариант, 2-декарис в сочетании с базовым вариантом, 3-базовый вариант с дополнительным введением тимогена, 4-базовый вариант с добавлением ликопида;

☆ - достоверность различий по парному критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

Включение в ее состав ликопида максимально увеличивает эффективность лечения и по итогам, как лабораторных данных, так и клинических наблюдений.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что лейкоцитарный состав венозной крови клинически здоровых детей зависит от степени антропогенного загрязнения окружающей среды. Формула крови детей из экологически неблагоприятной территории характеризуется более высоким содержанием лейкоцитов, рост которого ассоциирован с увеличением численности палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов с одновременным снижением количества моноцитов.

2. Обнаружено, что в крови детей из экологически неблагоприятной территории нарушена функциональная активность лейкоцитов. Данное нарушение проявляется снижением абсолютного числа и относительного количества фагоцитирующих моноцитов и фагоцитарного индекса эозинофилов.

3. Выявлено, что в крови детей из экологически неблагоприятной территории повышено абсолютное число $CD3^+$, $CD4^+$ -, $CD8^+$ - и $CD2^+$ - лимфоцитов и Е-РОК без изменения соотношения $CD4^+/CD8^+$. Одновременно среди лимфоцитов крови обнаружено увеличение количества термостабильных и тактивин-чувствительных Е-РОК. В сыворотках крови этих детей концентрация интерферона- γ в три раза ниже, чем его концентрация у детей из экологически благоприятной территории.

4. Установлено, что кровь детей из экологически неблагоприятной территории характеризуется увеличением абсолютного числа $CD22^+$ -клеток, которое не сопровождается существенными изменениями в концентрации сывороточных иммуноглобулинов. Исключение составляет иммуноглобулин Е, содержание которого в сыворотке крови в два раза выше, по сравнению с таковым у детей из экологически благоприятной территории.

5. Выявлено, что в крови детей из экологически неблагоприятной территории снижено относительное количество $CD45R0^+$ -клеток и повышено абсолютное число $CD16^+$ -клеток и клеток, экспрессирующих молекулы главного комплекса гистосовместимости II класса.

6. Обосновано, что применение превентивной иммунокоррекции по результатам индивидуального обследования иммунной системы, нивелирует экологически зависимые различия между большинством иммунологических параметров и снижает частоту острых респираторно-вирусных инфекций у детей. При этом эффективность иммунокоррекции в большей степени зависит от схемы применяемого лечения, чем от уровня антропогенного загрязнения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Bachmetyev B., Kevorkov N., Chereshev V., Shirshv S., Shilov Ju., Rayev M., Tokmakova O. Influence of unfavourable environment on the interrelations between age and immune system in children//5th International Expert Forum on Immunotherapy and Gene Therapy: Abst. - Jerusalem, Israel. - 1996. - P. 123.
2. Бахметьев Б.А., Кеворков Н.Н., Токмакова О.Г., Езова Е.А. Применение ликопида в комплексной посимптомной иммунокоррекции у детей из экологически неблагоприятных районов//Аллергология и иммунология. - 2000. - Т. I. N. 2. - С. 33.
3. Бахметьев Б.А., Кеворков Н.Н., Лихачева Н.С, Токмакова О.Г. Возрастные особенности функционирования фагоцитарной системы и гормон - цитокиновой сети детейУ/XVHI Съезд физиологического общества имени И.П. Павлова.: Тез. докл. - Казань. - 2001. - С. 476.
4. Бахметьев Б.А., Лихачева Н.С, Токмакова О.Г. Взаимосвязи цитокинового и гормонального профиля у детей разного возраста и пола//В кн.: Современные проблемы аллергологии, клинической иммунологии и иммунофармакологии: Тез. докл. IV конгресса РААКИ. - Москва. - 2001. - Т. 2. - С. 46.
5. Бахметьев Б.А., Лихачева Н.С, Токмакова О.Г., Езова Е.А. Половые особенности иммунной системы детей разного возраста/УМедицинская иммунология. - 2001. - Т. 3. N. 2. - С. 287.
6. Лихачева Н.С, Бахметьев Б.А., Токмакова О.Г. Корреляционный анализ фагоцитарной активности лейкоцитов в зависимости от концентрации гормона роста в сыворотке крови детей//В кн.: Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины: Тез. докл. II Росс. конф. молодых ученых России с международным участием. - Москва. - 2001. - Т. 1. - С. 190.
7. Лихачева Н.С, Бахметьев Б.А., Токмакова О.Г. IL-1 в регуляции функций фагоцитирующих клеток у мальчиков с 2 до 15 лет//Медицинская иммунология. - 2002. - Т. 4. N. 2. - С. 332.

8. Лихачева Н.С., Бахметьев Б.А., Токмакова О.Г. Возраст ассоциированная заинтересованность IL-1 в регуляции функционирования фагоцитирующих клеток//Иммунология Урала. - 2002. - № 1 (2). - С. 92-93.

9. Токмакова О.Г., Бахметьев Б.А., Кеворков Н.Н., Лихачева Н.С. Эффективность различных схем иммунопрофилактики у детей разного возраста/У Там же. - С. 99.

10. Бахметьев Б.А., Кеворков Н.Н., Токмакова О.Г., Лихачева Н.С, Резник А.В. Механизмы влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на развитие иммунной системы человека//В кн.: Региональный конкурс РФФИ-Урал. Результаты научных исследований, полученные за 2001 г. Аннотационные отчеты. - Пермь: ПНЦ УрО РАН, 2002. - С. 92-95.

11. Бахметьев Б.А., Кеворков Н.Н., Ширшев С.В., Шилов Ю.И., Токмакова О.Г., Лихачева Н.С, Токмакова О.Г. и др. Основные показатели иммунограммы детей и взрослых Пермской области. Справочно-методический материал для врачей/Под ред. Б. А. Бахметьева, С. В. Ширшева, Н. Н. Кеворкова. - Пермь, 2002. - 42 с.